



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales renovables

Carrera de Agronomía

Respuesta agronómica de la acelga (*Beta vulgaris* L.) mediante la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento bajo condiciones de campo en la Argelia.

Trabajo de Integración Curricular,
previa a la obtención del título de
Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Adrian Alexander Achupallas Armijos

DIRECTOR:

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

Loja – Ecuador

2024

Educamos para **Transformar**

Certificación

Loja, 7 de agosto de 2023

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Respuesta agronómica de la acelga (*Beta vulgaris L.*) mediante la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento bajo condiciones de campo en la Argelia,**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agrónomo**, de la autoría del estudiante **Adrian Alexander Achupallas Armijos**, con **cédula de identidad Nro.1150478897**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Adrian Alexander Achupallas Armijos**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional-Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de identidad: 1150478897

Fecha: 8 de enero de 2024.

Correo electrónico: adrian.achupallas@unl.edu.ec

Teléfono: 0986707328

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular

Yo, **Adrian Alexander Achupallas Armijos**, declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular: **Respuesta agronómica de la acelga (*Beta vulgaris L.*) mediante la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento bajo condiciones de campo en la Argelia**, como requisito para optar por el título de **Ingeniero Agrónomo**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los ocho días del mes de enero de dos mil veinticuatro.

Firma:



Autor: Adrian Alexander Achupallas Armijos

Cédula: 1150478897

Dirección: Calle Beethoven y Carlos Guerra, Samana.

Correo electrónico: adrian.achupallas@unl.edu.ec

Teléfono: 0986707328

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Integración Curricular: Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

Dedicatoria

Persiste, si todo fuera fácil, cualquiera lo lograría.

El presente trabajo está dedicado, en primer lugar, a Dios por bendecirme cada día con salud y fuerza para culminar esta etapa de mi vida. Gracias por permitirme llegar hasta aquí y cumplir este sueño.

Este logro se lo dedico sobre todo a mis amados padres, Wilman Achupallas y Mariana Armijos, quienes me han apoyado incondicionalmente en cada paso. Sus consejos y valores me han motivado constantemente para llegar a ser la persona que soy. Este trabajo es un pequeño homenaje a su infinito amor y dedicación.

También dedico mi trabajo a mis hermanos Soraya, Josselyn y Richard, por ser mis compañeros fieles y promotores de mis aspiraciones. Gracias por estar siempre conmigo, por sus aportes y por brindarme su respaldo en los momentos más exigentes de este camino. Su presencia ha sido invaluable.

Finalmente, dedico este logro a cada una de las personas que me han tendido su mano en esta etapa. Sus palabras de aliento y confianza en mi han sido el impulso para culminar exitosamente este Trabajo de Integración Curricular.

Adrian Alexander Achupallas Armijos

Agradecimiento

Agradezco sinceramente a la Universidad Nacional de Loja, en especial a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, y a la Carrera de Agronomía por brindarme la oportunidad de formarme como profesional y alcanzar una nueva meta.

Expreso mi gratitud a los Ingenieros Franco Guillen y Yomara Fernández por facilitarme las herramientas y el espacio para desarrollar mi Trabajo de Integración Curricular.

Agradezco profundamente al Ingeniero Ángel Robles, director de este Trabajo de Integración Curricular, por su paciencia, dedicación y apoyo constante desde los inicios del Trabajo de Integración Curricular. Mas que un docente ha sido un gran amigo y su guía ha sido invaluable en cada paso de este proceso.

Mi mayor gratitud a la Doctora Marina Mazón por su tiempo, comprensión y paciencia. Sus conocimientos y experiencia fueron fundamentales para enriquecer este Trabajo de Integración Curricular. Sus sugerencias y aportes mejoraron sustancialmente la redacción de esta investigación.

Finalmente, agradezco de corazón a mis amigos, especialmente a Jorge, Cristian, Richard, Jonathan, Gabriela y sobre todo a mi mejor amiga Mariana, por motivarme y apoyarme siempre. Gracias por estar a mi lado y por tenerme una mano amiga cuando lo he necesitado. Sin ustedes, este logro no hubiera sido posible.

Adrian Alexander Achupallas Armijos

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de tablas	xi
Índice de figuras	xi
Índice de anexos	x
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract.....	3
3. Introducción	4
4. Marco teórico	6
4.1. Acelga.....	6
4.1.1. <i>Morfología</i>	6
4.1.2. <i>Fases fenológicas</i>	7
4.2. Requerimientos edafoclimáticos	7
4.3. Microalgas	8
4.3.1. <i>Chlorella</i> sp.....	8
4.4. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV)	9
4.4.1. <i>Clasificación de los Microorganismos de interés</i>	9
4.5. Antecedentes.....	10
5. Metodología	12
5.1. Localización del estudio	12

5.1.1. <i>Condiciones climáticas</i>	12
5.2. Tratamientos	13
5.3. Diseño experimental	14
5.3.1. <i>Modelo matemático del diseño</i>	14
5.3.2. <i>Diseño en campo</i>	15
5.4. Metodología por objetivos.....	16
5.4.1. <i>Metodología para el primer objetivo</i>	16
5.4.2. <i>Metodología para el segundo objetivo</i>	17
6. Resultados	20
6.1. Resultados para el primer objetivo	20
6.2. Resultados para el segundo objetivo	21
7. Discusión	28
7.1. Discusiones para el primer objetivo	28
7.2. Discusiones para el segundo objetivo.....	29
8. Conclusiones	32
9. Recomendaciones	33
10. Bibliografía	34
11. Anexos	41

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de acelga.....	6
Tabla 2. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento de campo con la aplicación de combinaciones de <i>Chlorella</i> con MPCV.....	13
Tabla 3. Delineamiento del diseño experimental para la evaluación de combinaciones de <i>Chlorella</i> y microorganismos promotores del crecimiento en el cultivo de acelga en la quinta experimental docente La Argelia, Loja.....	14

Índice de figuras

Figura 1. Etapas fenológicas de la acelga	7
Figura 2. Localización de la Quinta Experimental La Argelia de la Universidad Nacional de Loja	12
Figura 3. Diseño utilizado para la implementación del ensayo en campo, diseño DBCA. ...	15
Figura 4. Porcentajes de germinación de las semillas de acelga en semillero	20
Figura 5. Porcentajes de prendimiento de plántulas de acelga en campo	21
Figura 6. Curva de crecimiento de plantas de acelga después del trasplante para los distintos tratamientos aplicados, a los 9, 24, 39, 54, 69, 84 y 99 días después del trasplante	22
Figura 7. Área foliar del cultivo de acelga para los distintos tratamientos aplicados a los 40, 70 y 100 días después del trasplante	23
Figura 8. Longitud de la raíz de las plantas acelga registrados al final del ensayo	24
Figura 9. Número de hojas de las plantas acelga registradas al final del ensayo.....	25
Figura 10. Peso fresco de las plantas acelga registrados al final del ensayo	26
Figura 11. Peso seco de las plantas acelga registrados al final del ensayo	27

Índice de anexos

Anexo 1. Delimitación de parcelas en la quinta experimental la Argelia.....	16
Anexo 2. Control de plagas (Diabrotica), con el uso de insecticida químico	16
Anexo 3. Variedad FordHook Giant, cultivada	16
Anexo 4. Inicio de la germinación de las semillas de acelga a los 3 días después de la siembra	16
Anexo 5. Inoculación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal y microalga en semillero	16
Anexo 6. Germinación del 100 % de las semillas de acelga.....	17
Anexo 7. Aparición de hojas cotiledonales.....	17
Anexo 8. Medición de la variable altura	18
Anexo 9. Medición de largo y ancho de la hoja, correspondiente a la variable área foliar ...	18
Anexo 10. Conteo de número de hojas	18
Anexo 11. Medición de longitud radical.....	18
Anexo 12. Cosecha del cultivo de acelga	18
Anexo 13. Peso de materia seca.....	19
Anexo 14. Certificado de traducción del resumen	46

1. Titulo

Respuesta agronómica de la acelga (*Beta vulgaris* L.) mediante la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento bajo condiciones de campo en la Argelia.

2. Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la respuesta agronómica de la acelga mediante la combinación de la microalga *Chlorella* con microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV) como *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp. y *Pseudomonas* sp., bajo condiciones de campo en la Quinta experimental la Argelia de Loja. Para lo cual se realizó un diseño de bloques completos al azar con 9 tratamientos (T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomona* sp., T5= *Chlorella* sp.+ *Azotobacter* sp., T6= *Chlorella* sp.+ *Azospirillum* sp., T7= *Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Químico y T9=Agua; con 5 repeticiones. Se evaluaron los siguientes parámetros: geminación, número de hojas cotiledonales, porcentaje de prendimiento, altura, área foliar, longitud radical, número de hojas, peso fresco y peso seco. El mejor tratamiento fue la combinación de *Chlorella* sp + *Pseudomonas* sp., la cual destacó en la evaluación de los parámetros: área foliar, longitud de raíz, número de hojas y peso seco. De igual forma, el tratamiento T8 (testigo químico) presentó el mayor peso fresco. Asimismo, los resultados evidenciaron que el tratamiento (*Chlorella* sp + *Pseudomonas* sp.), fue el mejor en las variables de crecimiento y productividad de acelga. Finalmente, los resultados obtenidos en la presente investigación constituyen alternativas amigables con el medio ambiente para reemplazar total o parcialmente fertilizantes químicos.

Palabras clave: *Chlorella*, Biofertilizantes, Crecimiento, Desarrollo, microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV).

Abstract

The objective of this research was to evaluate the agronomic response of chard by combining the microalgae *Chlorella* with plant growth promoting microorganisms (PGPM) such as *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., under field conditions at the Argelia experimental farm in Loja. For which a complete randomized block design was carried out with 9 treatments (T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomona* sp., T5= *Chlorella* sp.+ *Azotobacter* sp., T6 = *Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp., T7 = *Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8 = Chemical and T9 = Water; with 5 repetitions. The following parameters were evaluated: germination, number of cotyledonal leaves, percentage of attachment, height, leaf area, root length, number of leaves, fresh weight and dry weight. The best treatment was the combination of *Chlorella* sp + *Pseudomonas* sp., which stood out in the evaluation of the parameters: leaf area, root length, number of leaves and dry weight. Similarly, the T8 treatment (chemical control) presented the highest fresh weight. Likewise, the results showed that the treatment (*Chlorella* sp + *Pseudomonas* sp.), was the best in the growth and productivity variables of chard. Finally, the results obtained in this research constitute environmentally friendly alternatives to totally or partially replace chemical fertilizers.

Keywords: *Chlorella*, Biofertilizers, Growth, Development, plant growth promoting microorganisms (PGPM).

3. Introducción

La acelga (*Beta vulgaris* L.), se considera una buena fuente de vitaminas A, B y C, y minerales como calcio, hierro y fósforo (Bozokalfa et al., 2016). Es una hortaliza de hoja bienal cultivada en todo el mundo, desde el norte de la India, América del Sur, los países mediterráneos y Estados Unidos. Es un cultivo importante debido a su disponibilidad durante todo el año, alto rendimiento, bajo costo y abundancia de compuestos fenólicos. Las hojas y los tallos son las partes comestibles que se utilizan en muchos platos tradicionales, en ensaladas o cocidos (Trifunovic et al., 2015).

A nivel mundial en el sector agrícola, el crecimiento vegetal adecuado es de gran importancia ya que garantiza un mayor nivel de producción. En este sentido, para mantener o incrementar la productividad de los cultivos, es necesario implementar procesos de fertilización. La aplicación de fertilizantes químicos u orgánicos, suplen al suelo con macro y micronutrientes requeridos para el buen desarrollo de la planta, es una práctica habitual en los sistemas agrícolas (FAO, 2002). La falta de investigación de medidas alternativas sobre la fertilización de hortalizas ha ocasionado una disminución considerable del rendimiento y la calidad de las mismas, provocando que la mayoría de los agricultores realicen aplicaciones excesivas afectando adversamente a los microorganismos del suelo y adquiriendo una resistencia a los productos empleados, induciendo cada vez se utilicen cantidades mayores o cambiar de enmiendas químicas (S. Lira, 2017).

En Ecuador, la producción de cultivos tiene gran acogida tanto en los mercados locales como en los mercados internacionales debido a su calidad, lo que motiva a más agricultores participen en este importante renglón productivo. En el caso de la acelga, cada vez aumentan las personas que se dedican a su producción motivados porque su manejo se puede hacer en pequeños espacios de terreno, además de presentar un período vegetativo corto en la mayoría de variedades, y por ser un cultivo rentable (Camposano, 2020).

Existen varios estudios que demuestran los efectos positivos de usar *Chlorella* y microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV) como *Pseudomonas* sp., *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. en diferentes hortalizas (Gómez et al., 2022). Sin embargo, en el cultivo de la acelga hay muy poca información sobre la aplicación de MPCV en combinación con la microalga. Lo cual podría ser una alternativa orgánica para aumentar la producción de cultivos y reducir el uso excesivo de agroquímicos sintéticos. Por esta razón se plantea utilizar microorganismos benéficos, ya que diversos estudios han demostrado que los

microbioinoculantes pueden ayudar a fijar el nitrógeno, mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo y producir sustancias que promueven el crecimiento vegetal, además controlan infecciones de plagas y enfermedades. Tanto *Chlorella* como los MPCV presentan una opción viable de biofertilización con beneficios para la producción agrícola y el medio ambiente (Ortiz et al., 2019).

Por ello, en la presente investigación se analizó el efecto de los MPCV en combinación con *Chlorella* sobre parámetros de crecimiento del cultivo de acelga. Para el efecto se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Evaluar la respuesta agronómica de la acelga mediante la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento bajo condiciones de campo en La Argelia.

Objetivos específicos

- Analizar el efecto de la interacción de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en semillas de acelga a nivel de semillero.
- Determinar la influencia de la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de acelga sobre sus parámetros agronómicos y productivos.

4. Marco teórico

4.1. Acelga

La acelga se origina y distribuye de forma nativa en las regiones mediterráneas de Europa y norte de África, así como las Islas Canarias, zonas que presentan un clima templado apropiado para el desarrollo de este cultivo (M. García, 2013).

Es una planta herbácea de la familia de las Amaranthaceae con hojas de color verde y peciolo blanco. Forma raíces pequeñas y leñosas. La parte comestible de la acelga es la hoja, el peciolo y la nerviación central, engrosada y carnosa, de la hoja (Fundación Española de Nutrición, 2023).

En la Tabla 1 se presenta la clasificación botánica según el Sistema integrado de información taxonómica (ITIS, 2023).

Tabla 1. Taxonomía de acelga.

Taxonomía de la acelga	
Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
División	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Cariófilos
Familia	Amaranthaceae
Genero	<i>Beta</i>
Especie	<i>vulgaris</i> L.

Fuente: Sistema integrado de información taxonómica (ITIS, 2023).

4.1.1. Morfología

García, (2013) manifiesta la morfología de la acelga:

- **Planta:** Herbácea bianual cultivada como anual, con hojas grandes, de color verde brillante a amarillo claro.
- **Sistema radicular:** Raíz bastante profunda y fibrosa.
- **Hojas:** Constituyen la parte comestible y son grandes de forma oval tirando hacia acorazonada; tiene un peciolo o penca ancho y largo, que se prolonga en el limbo; el color varía, según variedades, entre verde oscuro fuerte y verde claro. Los peciolo pueden ser de color blanco, amarillento o incluso rojizo, según la variedad. crema o blancos.

- **Flores:** Para que se presente la floración necesita pasar por un período de temperaturas bajas. El vástago floral alcanza una altura promedio de 1,2 m. La inflorescencia está compuesta por una larga panícula. Las flores son sésiles y hermafroditas pudiendo aparecer solas o en grupos de dos o tres. El cáliz es de color verdoso y está compuesto por 5 sépalos y 5 pétalos.
- **Fruto:** Las semillas son muy pequeñas y están encerradas en un pequeño fruto al que comúnmente se le llama semilla (realmente es un fruto), el que contiene de 3 a 4 semillas.

4.1.2. Fases fenológicas

En la figura 1, se muestran las fases fenológicas del cultivo de acelga generalmente desarrolla su roseta a la séptima y octava semana.

SEMANAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9 - 20	21 - 35	36 - 48	49	50	
ETAPAS DE DESARROLLO														
	GERMINACION	EMERGENCIA	ESTADO VEGETATIVO		DESARROLLO DE LA ROSETA			VERNALIZACION	EMISION DE ESCAPO FLORAL	FLORACION Y FORMACION DE SEMILLAS		SENESCENCIA		
LABORES	CONTROL DE PLAGAS DEL SUELO		ACLAREO		FERTILIZACION			COSECHA DE HOJAS	RECOLECCION DE SEMILLAS					
CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES	GALLINA CIEGA 				MOSCA DE LA REMOLACHA 				PULGUILLA 		ENFERMEDADES: CERCOSPORA, PERONOSPORAY SCLEROTINIA			
	GUSANO DE ALAMBRE 				PULGON 				MACERACION DE 200g DE RUDA EN UN LITRO DE AGUA O EL ALCOHOL DE AJO		APLICACION DE ENIZAS SOBRE EL FOLLAJE			

Figura 1. Etapas fenológicas de la acelga. Fuente (Chavelis, 2014).

4.2. Requerimientos edafoclimáticos

La acelga es una planta de climas templados, con buen crecimiento en condiciones térmicas medias. Cambios bruscos en las condiciones ambientales, especialmente cuando se pasa por periodos cálidos a fríos, pueden inducir la floración al inicio de la segunda etapa fenológica de desarrollo. Es sensible a variaciones abruptas las cuales pueden afectar su ciclo normal al provocar la transición al estado reproductivo de manera prematura (M. García, 2013). A continuación, se muestran las exigencias climáticas:

- **Temperatura:** Para la germinación se requieren 15 °C, en la fase de desarrollo vegetativo 5-33 °C, la temperatura óptima para el cultivo varía de 18-25 °C.
- **Humedad:** Varía entre un 60-80 %, siendo óptimas.
- **Luz:** No requiere excesiva luz

En cuanto a requerimientos edáficos, el cultivo de acelga prospera mejor en suelos con texturas arcillosas o francas, con adecuada estructura y consistencia media. Presenta mayor desarrollo vegetativo en sustratos con contenidos relativamente altos de arcilla comparado con aquellos de texturas arenosas. Requiere suelos profundos con buena permeabilidad y alta capacidad de retención de humedad, así como abundante materia orgánica. Tolerancia moderada a la salinidad soportando concentraciones elevadas de cloruros y sulfatos, aunque es sensible a la presencia de sodio, se desarrolla de manera óptima en condiciones de ligera alcalinidad, con un pH aproximado de 7,2 pudiendo tener un buen crecimiento en un rango entre 5,5 y 8 (M. García, 2013).

4.3. Microalgas

Son organismos fotoautótrofos con rápido crecimiento y con la habilidad de adaptarse a varios ambientes. Convierten el dióxido de carbono en biomasa, debido a eso se considera como gran potencial biotecnológico. La biomasa algal puede usarse en la industria alimenticia y de compuestos bioactivos, en la producción de biocombustibles, en la biorremediación y biofertilización. Son un grupo fotosintético polifilético de tamaño microscópico, formado por organismos eucariotas y cianobacterias procariotas. Las microalgas presentan ventajas únicas, como su facilidad de cultivo, sus bajos costos de crecimiento y su capacidad de adaptación a distintos entornos, lo que permite establecer su cultivo en zonas pequeñas y en regiones normalmente inadecuadas para los cultivos agrícolas (Ortiz-Moreno et al., 2019).

4.3.1. *Chlorella* sp.

Las especies de algas verdes de forma de célula esférica generalmente se consideran pertenecientes al género *Chlorella*, que son en su mayoría organismos de agua dulce o terrestres. Los estudios filogenéticos han demostrado que el género es polifilético y pertenece a diferentes clases. Pero solo se han estudiado cepas de agua dulce y terrestres (Darienko et al., 2019).

Chlorella sp. provee altos niveles de macro y micronutrientes, así como diferentes metabolitos y constituyentes bioactivos, entre ellos carbohidratos, proteínas y citoquininas que

actúan como factores promotores del crecimiento vegetal, es decir contiene compuestos nutricionales esenciales para las plantas, como nitrógeno, fosforo, potasio, además de sustancias bioestimulantes que favorecen el desarrollo y crecimiento de los cultivos. El aporte de estos elementos mejora el estado nutricional y fisiológico de las plantas (Ortiz-Moreno et al., 2019).

4.4. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV)

Son un grupo de diferentes microorganismos que pueden incrementar el crecimiento y la productividad vegetal, entre los géneros más conocidos y utilizados en la agricultura están: *Rhizobium* sp., *Pseudomonas* sp., *Azospirillum* sp., *Actinoplanes* sp., *Agrobacterium* sp., *Azobacter* sp., *Bacillus* sp., etc. Para trabajar con estos microorganismos existen métodos de aplicación basados en la inoculación de semilla, sustrato, plántula, follaje, frutos, inoculación de colmenas, suelo e inoculación en composta. Así mismo, se puede aplicar en las primeras etapas de la planta, así como mantener un manejo integral del cultivo y las características del suelo (Intagri, 2023).

4.4.1. Clasificación de los Microorganismos de interés.

- ***Pseudomonas* sp.**

Tienen capacidad de ser biocontroladores, responsables de la supresión natural de algunos patógenos transmitidos por el suelo, estimulador del crecimiento de las plantas y solubilizadora de minerales; además, presenta una un alto grado de crecimiento en condiciones *in vitro*, lo cual facilita su producción en masa. Las *Pseudomonas fluorescens* producen un amplio espectro de metabolitos bioactivos; es decir, antibióticos, sideróforos, volátiles y sustancias promotoras del crecimiento vegetal, permitiéndole una mejor adaptación al estrés ambiental (Otieno et al., 2015).

- ***Azospirillum* sp.**

Es conocido desde hace décadas como uno de los microorganismos más versátiles de los MPCV. Las especies del género pueden colonizar las raíces de los cultivos, generando fitohormonas, facilitando la solubilización de nutrientes, incluida la fijación de nitrógeno y el secuestro de Fe (Mangmang et al., 2015).

- *Azotobacter* sp.

Es conocido por sintetizar sustancias promotoras del crecimiento biológicamente activas como el ácido indolacético, giberelina y vitaminas B en medios de cultivo, además de su capacidad para fijar N atmosférico (Rodrigues et al., 2018).

4.5. Antecedentes

Estudios realizados en Colombia, evaluaron el efecto de *Chlorella* spp. en germinación y producción de zanahoria variedad Chantenay usando como sustrato suelo agrícola con deficiencias de nitrógeno y carbono orgánico. La microalga se cultivó en fotobiorreactores, controlando temperatura, pH y absorbancia. Determinaron el contenido de nitrógeno, fósforo, potasio y carbono orgánico en la biomasa algal. Realizaron un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cinco replicas en condiciones controladas. Los tratamientos fueron: T0 (testigo); T1 (fertilización química); T2 y T3 (aplicación de microalga en diferentes dosis). Evaluaron germinación a los 10 días y producción a los 120 días. La microalga presentó 23 mg/L de nitrógeno, 192mg/L de carbono orgánico y 1mg/L de fósforo. El sustrato tuvo un pH ácido, bajo nitrógeno y carbono orgánico. El porcentaje de germinación del T0 fue 32 %, el T2 73,28 %. En producción, T1 y T2 tuvieron los mayores pesos sin diferencias entre ellos. T2 presentó mayor altura y longitud de hojas y raíces. Se concluye que la microalga *Chlorella* spp. tiene potencial como bioestimulante en germinación y producción de zanahoria en sustratos deficientes en nitrógeno y carbono orgánico (Aldana & Rojas, 2019).

Investigaciones realizadas por Escobar et al. (2011), detalladas para caracterizar y determinar el impacto de cepas nativas de *Azotobacter* sp. en el desarrollo vegetativo de *Lycopersicon esculentum* Mill. El objetivo principal fue ofrecer una alternativa viable para reducir la dependencia de fertilizantes químicos. En este estudio tomaron muestras de raíces y suelo rizosférico de hortalizas, realizando diluciones en caldo Ashby-Sacarosa e incubándolas a 30°C hasta que se observara un color amarillo, turbidez y película superficial. Los resultados revelaron que todas las cepas nativas provocaron un incremento significativo en la altura de las plantas, así como en diversas variables como el volumen radicular, la materia seca total y las partes aéreas y radiculares en comparación con el testigo absoluto, este estudio proporcionó evidencia del potencial beneficioso limpio de las cepas de *Azotobacter* sp. para mejorar el desarrollo vegetativo, ofreciendo una alternativa sostenible al uso excesivo de enmiendas químicas.

En otro estudio se evaluaron el efecto de microorganismos de montaña (MM) provenientes de tres ecosistemas (Café, potrero, bosque) y microorganismos eficientes comerciales (EM) en la producción de acelga (*Beta vulgaris* var, cicla). Establecieron un diseño experimental con parcelas divididas por frecuencia de aplicación (1-2 veces/semana) y en cada parcela 3 bloques con 5 tratamientos. T1 a T4 fueron MM de cada agroecosistema y EM, T5 fue el control. Realizaron evaluaciones semanales por 70 días de altura, diámetro, daño por plagas y peso. El análisis de varianza mostró diferencias significativas en altura y diámetro entre frecuencias de aplicación, siendo mejor con dos aplicaciones. En esta parcela, T3 (MM de potrero) y T1 (MM de café) presentaron mayor altura y diámetro, además de menor daño por plagas. El mayor peso se obtuvo con T3 y T1 en ambas parcelas. Se concluye que los MM de potrero y café aplicados dos veces por semana mostraron mayor efectividad en crecimiento y rendimiento de acelga (Campo et al., 2014).

5. Metodología

5.1. Localización del estudio

La investigación se desarrolló en el cantón y provincia de Loja, en la Quinta Experimental La Argelia de la Universidad Nacional de Loja (Figura 2). Geográficamente se ubica en las siguientes coordenadas:

Latitud: 4° 2'17.52"S

Longitud: 79°12'0.55" O

Altitud: 2135 m s. n. m.

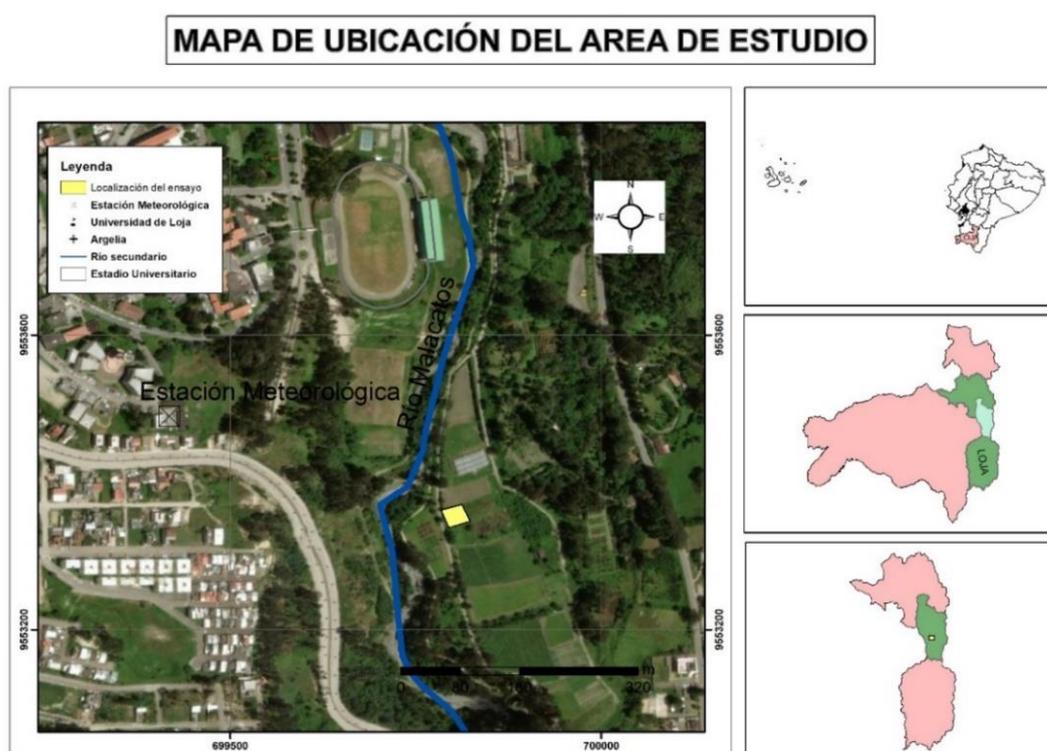


Figura 2. Ubicación de la investigación, cantón Loja, Quinta Experimental Docente “La Argelia”.

Fuente: elaboración propia.

5.1.1. Condiciones climáticas

El plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Loja (2020), menciona que las condiciones meteorológicas que presenta el sitio de investigación son:

- Precipitación media anual de 1058 mm.
- Temperatura media anual de 18 °C.
- Humedad relativa media de 78 %

5.2. Tratamientos

Se adicionaron tres combinaciones de *Chlorella* con MPCV (*Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*), más los tratamientos de microorganismos promotores, seguido de un tratamiento testigo negativo (Agua), y un tratamiento testigo positivo (químico), dando un total de 9 tratamientos (tabla 2).

Tabla 2

Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento de campo con la aplicación de combinaciones de *Chlorella* con MPCV.

Tratamiento	Símbolo	Descripción	Símbolo	Dosis	Aplicaciones
1	T1	<i>Chlorella</i> sp..		$1 * 10^8$	2
2	T2	<i>Azotobacter</i> sp.		$1 * 10^8$	2
3	T3	<i>Azospirillum</i> sp.		$1 * 10^8$	2
4	T4	<i>Pseudomonas</i> sp.		$1 * 10^8$	2
5	T5	<i>Chlorella</i> sp. + <i>Azotobacter</i> sp.		$1 * 10^8$	2
6	T6	<i>Chlorella</i> sp. + <i>Azospirillum</i> sp.		$1 * 10^8$	2
7	T7	<i>Chlorella</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.		$1 * 10^8$	2
8	T8	Químico		NPK(10-30-10) 10g/1 l	2
9	T9	Agua		100	

5.3. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental DBCA (Diseño de Bloques Completamente al Azar) con 9 tratamientos y 5 repeticiones (tabla 3).

5.3.1. Modelo matemático del diseño

El modelo estadístico para este diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varphi_{ij}$$

Y_{ij} = variable de respuesta

μ = media general

τ_i = efecto fijo del tratamiento

β_j = efecto fijo del bloque

φ_{ij} = error experimental

Tabla 3

Delineamiento del diseño experimental para la evaluación de combinaciones de *Chlorella* sp. y microorganismos promotores del crecimiento en el cultivo de acelga en la Quinta Experimental Docente “La Argelia”, Loja.

Diseño	Cantidad
Número de tratamientos	9
Número de repeticiones	5
Unidades experimentales	45
Tamaño de unidad experimental (parcela)	2,4 x 2 m
Número de bloques	5
Distancia entre bloques	0,5 m
Distancia entre surcos	0,4 m
Distancia entre plantas	0,4 m
Distancia entre parcelas	0,5 m
Número de surcos por parcela	5
Número de plantas por surco	6
Número de plantas por parcela	30
Número total de plantas	1350

5.3.2. Diseño en campo

En la figura 3, se muestra el diseño utilizado para realizar la implementación del ensayo en campo, donde se utilizó un diseño DBCA.

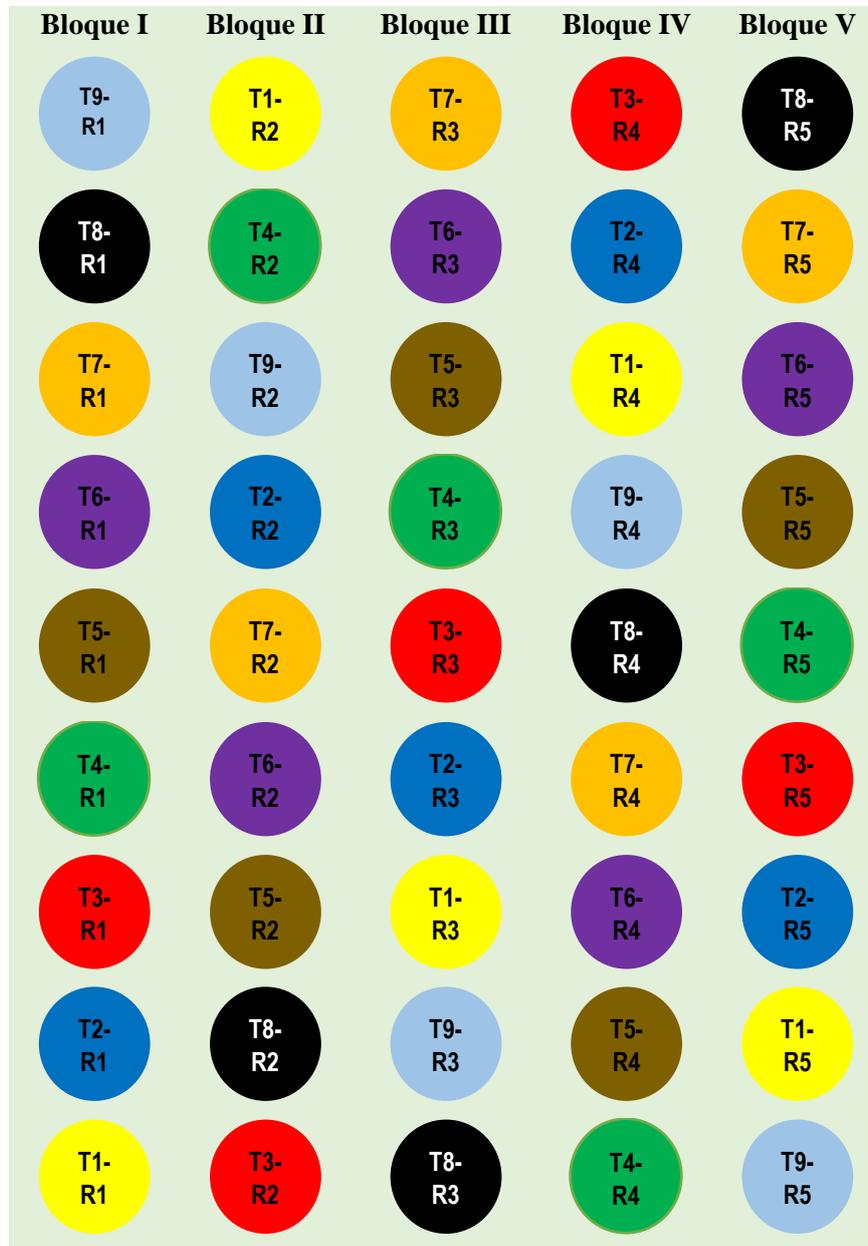


Figura 3. Los tratamientos fueron 9, resulta oportuno recalcar que se adicionaron 2 dosis de control: control negativo T9=Agua, y control positivo T8=Químico, NPK (10-30-10) diluido 10 gr en 1 litro de agua, un tratamiento de microalga T1=*Chlorella* sp., seguido de los tratamientos con bacterias; T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., y finalmente los tratamientos con las combinaciones de la microalga con las bacterias, T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., con cinco repeticiones que se esquematiza el diseño experimental empleado en campo.

5.4. Metodología por objetivos

Se obtuvieron semillas de acelga que fueron sembradas en bandejas de germinación estandarizadas bajo condiciones controladas de invernadero. Posteriormente, se realizó la preparación del suelo mediante labranza mecanizada utilizando un tractor agrícola. Luego se efectuó el trazado y división de parcelas experimentales según el diseño propuesto (Anexo 1). Transcurridos 21 días después de la siembra, se realizó el trasplante de plántulas a campo definitivo, estableciendo una distancia de 0,4 m entre hileras y 0,4 m entre plantas dentro de la hilera. Durante el ciclo de cultivo se realizaron deshierbes manuales y aplicaciones fitosanitarias preventivas con Lambda-cyhalothrin para el control de plagas (Anexo 2). El riego se efectuó periódicamente según los requerimientos hídricos del cultivo en cada etapa fenológica. La cosecha se efectuó de forma manual cuando el cultivo alcanzó la madurez fisiológica, extrayendo todas las plantas de cada unidad experimental.

5.4.1. Metodología para el primer objetivo

“Analizar el efecto de la interacción de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en semillas de acelga a nivel de semillero”.

- **Siembra en semillero**

El sustrato empleado para la siembra en semillero fue una mezcla 1:1 de tierra de bosque y turba, previamente esterilizadas. Se utilizaron semillas certificadas de acelga variedad Fordhook Giant (Anexo 3), desarrollada en Estados Unidos, las cuales fueron desinfectadas mediante inmersión en etanol al 70 % durante 2 minutos, seguido de lavado con agua destilada para eliminar residuos químicos. La siembra se realizó colocando una semilla por cavidad en bandejas de germinación. Inmediatamente después de la siembra se regó con agua destilada y se cubrieron las bandejas con plástico hasta la emergencia de las plántulas (Anexo 4).

- **Obtención de bacterias y microalga**

Las bacterias y la microalga fueron obtenidas y cultivadas por el laboratorio de biotecnología vegetal, además fueron recolectadas en el cantón Zapotillo.

- **Inoculación de *Chlorella sp.* y bacterias en semillas de acelga**

Un día después de la siembra, se realizó la primera inoculación bacteriana en condiciones controladas (Anexo 5). Se utilizaron pipetas para agregar 1 ml de cada tratamiento

experimental. En los tratamientos combinados se inocularon 0,5 ml de microalga y 0,5 ml de bacteria respectiva a una concentración de 1×10^8 células/ml respectivamente. Como control positivo se añadió 1 ml de una solución de fertilizante químico NPK (10-30-10) a 10 g/L y como control negativo agua destilada. Tres semanas después del trasplante en campo, cuando las plántulas alcanzaron el estado vegetativo, se realizó una segunda inoculación bacteriana en condiciones de campo.

5.4.1.1. Variables a evaluar

- **Porcentaje de germinación en semillero**

El porcentaje de germinación de la semilla se determinó mediante la relación entre el número de semillas germinadas y el número de semillas total por cada uno de los tratamientos, con la ecuación propuesta por Araya et al., (2000), se observó la germinación hasta la aparición de las hojas cotiledonales, se evaluó la fase de germinación hasta el trasplante de las plántulas, es decir hasta los 21 días después de la siembra en semillero (Anexo 6).

$$\% \text{ Germinación} = \left(\frac{\text{semillas germinadas}}{\text{semillas totales}} \right) * 100$$

- **Aparición de hojas cotiledonales**

Se contabilizaron los días transcurridos desde la siembra hasta la aparición de los cotiledones totalmente desplegados en cada plántula de los diferentes tratamientos (Anexo 7). Las observaciones se realizaron a diario.

5.4.2. Metodología para el segundo objetivo

“Determinar la influencia de la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de acelga sobre sus parámetros agronómicos y productivos”.

Para dar respuesta al objetivo se consideraron las siguientes variables:

- **Prendimiento o Supervivencia de plántulas**

Se contabilizó el número de plantas que sobrevivieron luego del trasplante. Se relacionó el número total de plantas trasplantadas sobre el número total de plantas vivas en cada unidad experimental. Se evaluó luego de 8 días después del trasplante en campo.

- **Altura de planta**

Se realizaron mediciones periódicas durante el ensayo, iniciando en el día 9 después del trasplante hasta el final del ensayo, se midió con un flexómetro desde la base del cuello de la planta hasta el ápice de la hoja más larga, se midieron 6 plantas de cada unidad experimental con un flexómetro expresados en centímetros cada 15 días a partir de la evaluación del prendimiento de plantas (Anexo 8).

- **Área foliar**

El área de las hojas se calculó mediante la utilización de un flexómetro para medir el largo y ancho de la hoja (Anexo 9), y luego multiplicar con la ecuación de regresión múltiple PLANE ($R^2= 0,92$) propuesta en un estudio realizado por Yeshitila (2016)., se midió 2 plantas por cada unidad experimental y se calculó el promedio de la medición de todas las hojas en cm^2 . La primera lectura se realizó a los 40 días después del trasplante, las dos plantas por cada unidad experimental se midieron hasta el final del experimento, las lecturas se efectuaron cada 30 días.

- **Número de hojas**

Se realizó el conteo por observación directa del número de hojas verdaderas producidas al final del ensayo. Se tomaron 6 plantas por cada unidad experimental (Anexo 10).

- **Longitud de raíz**

Se midió desde la parte del cuello de la planta hasta el ápice de la raíz más larga con un flexómetro expresado en centímetros (Anexo 11). La lectura se realizó una sola vez al final del ensayo, cuando los tratamientos presentaron su madurez fisiológica. Es importante mencionar que para evaluar dicha variable se tomaron datos a 6 plantas marcadas por cada unidad experimental.

- **Masa fresca**

Se tomó del promedio de 6 plantas por unidad experimental en la cosecha (Anexo 12). Cuando las hojas de acelga presentaron la madurez fisiológica se realizó la cosecha de todos los tratamientos el mismo día y se registró el peso en una balanza electrónica.

- **Masa seca**

Para la evaluación de la masa seca se pesaron en una balanza de precisión de 1g, la parte aérea y la raíz de la planta. Para medir las plantas se secaron en horno con circulación de aire a 70 °C por 120 h, hasta alcanzar peso constante (Anexo 13).

5.5. Análisis estadístico

Los datos recopilados del experimento fueron tabulados en Microsoft Excel, y posteriormente analizados estadísticamente utilizando el Software InfoStat versión libre. Se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas previo al análisis ANOVA, el cual se realizó para conocer el efecto de los microorganismos y su combinación con la microalga sobre el cultivo de acelga en la quinta experimental La Argelia del cantón Loja. Para detectar diferencias significativas entre medias de tratamientos se ejecutó la prueba de Tukey al 95 % de confianza. Previo a los análisis de los datos expresados en porcentaje fueron transformados mediante $\arcsen(x)$.

6. Resultados

6.1. Resultados para el primer objetivo

“Analizar el efecto de la interacción de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en semillas de acelga a nivel de semillero”.

- **Porcentaje de germinación**

Se observó que, el porcentaje de germinación de las semillas de acelga fue significativamente mayor en los tratamientos con la combinación de *Chlorella* sp., y MPCV y las bacterias solas, en comparación al testigo (Figura 4). Específicamente, los tratamientos T7 (*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp.) y T5 (*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp.) presentaron los mayores porcentajes de germinación con valores de 90 % respectivamente, mientras el testigo negativo alcanzó solo un 44,52 % de germinación.

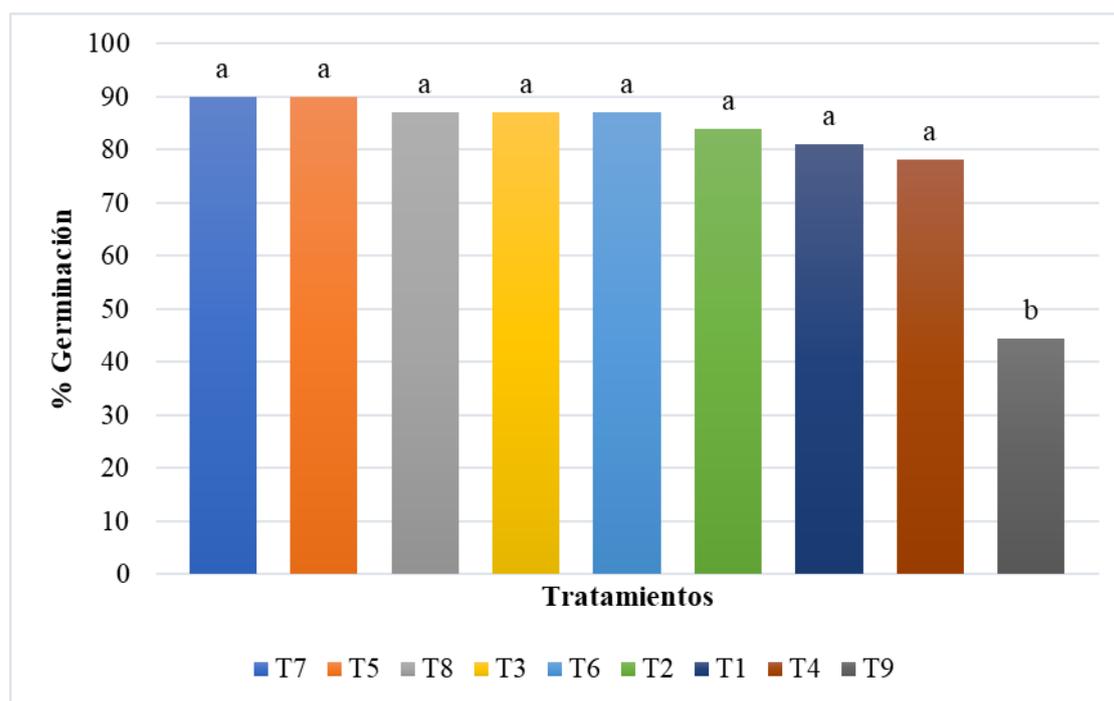


Figura 4. Porcentajes de germinación de las semillas de acelga en semillero para los tratamientos. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Aparición de hojas cotiledonales**

Se observó que no hubo diferencia entre tratamientos en la aparición de hojas cotiledonales, todas aparecieron a los 9 días después de la siembra

6.2. Resultados para el segundo objetivo

“Determinar la influencia de la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de acelga sobre sus parámetros agronómicos y productivos”.

- **Prendimiento/sobrevivencia de plántulas**

En la figura 5 se indica que el prendimiento o sobrevivencia de las plántulas después del trasplante en campo fue significativamente mayor en los tratamientos con *Chlorella* sp. y MPCV en comparación al testigo negativo sin inocular (Figura 5). Los tratamientos T8 (67,93 %), T7 (64,96 %) y T3 (64,38 %) presentaron los mayores porcentajes de prendimiento, mientras que en el testigo negativo solo sobrevivió un 37,42 % de las plántulas.

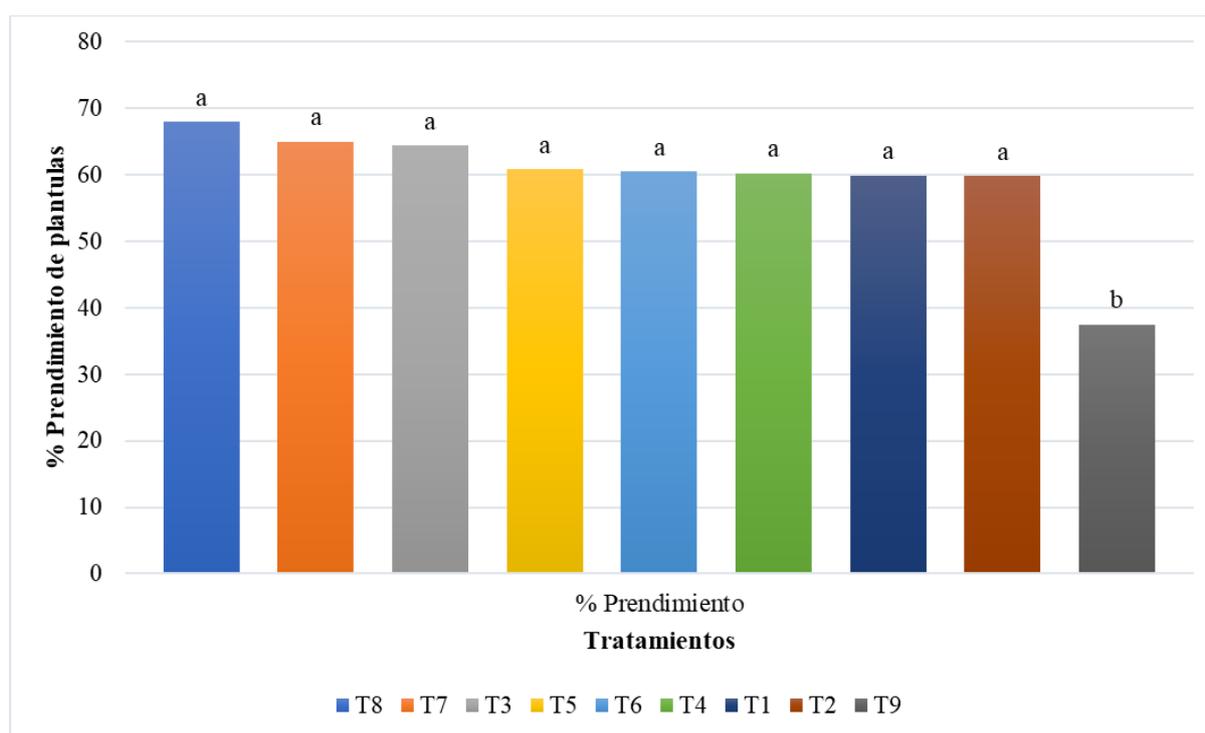


Figura 5. Porcentajes de prendimiento de plántulas de acelga en campo para los tratamientos. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Altura de la planta**

La altura de las plantas de acelga fue significativamente mayor en todos los tratamientos con *Chlorella sp.* y MPCV aplicados de forma individual y en combinación, en comparación al testigo negativo sin inocular, luego de las 7 evaluaciones realizadas durante el ciclo de cultivo (Figura 6). Por ejemplo, en la última medición a los 99 días después del trasplante, el tratamiento T8 (Testigo) y T7 (*Chlorella* + *Pseudomonas sp.*) alcanzaron una altura de 42,03 cm y 40,58 cm frente a solo 25,16 cm del testigo negativo.

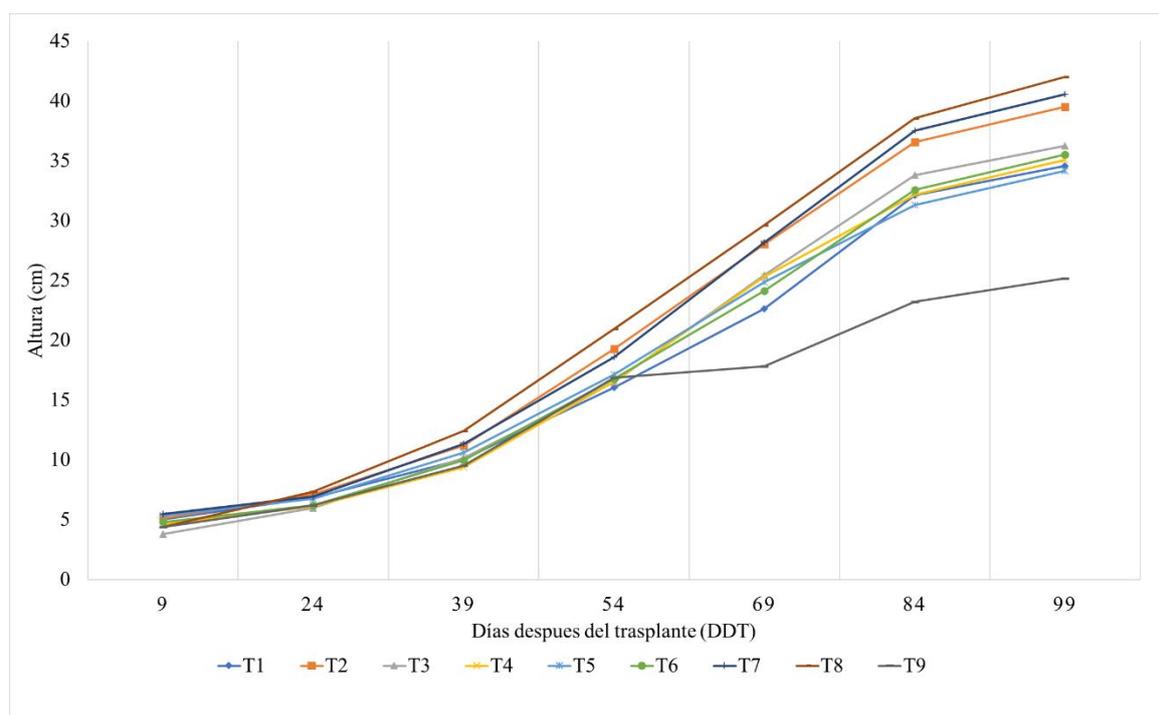


Figura 6. Curva de crecimiento de plantas de acelga después del trasplante para los distintos tratamientos aplicados, a los 9, 24, 39, 54, 69, 84 y 99 días después del trasplante.

Leyenda: T1=*Chlorella sp.*, T2=*Azotobacter sp.*, T3=*Azospirillum sp.*, T4=*Pseudomonas sp.*, T5=*Chlorella sp.* + *Azotobacter sp.*, T6=*Chlorella sp.* + *Azospirillum sp.* y T7=*Chlorella sp.* + *Pseudomonas sp.*, T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Área foliar**

El área foliar de las plantas de acelga fue significativamente mayor en el tratamiento T7 (*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp.) en comparación a los demás tratamientos, incluyendo el testigo negativo, luego de tres evaluaciones realizadas (Figura 7). Por ejemplo, en la última medición este tratamiento presentó un área foliar promedio de 410,83 cm² frente a solo 165,42 cm² del testigo negativo. Esta variable es un importante indicador del crecimiento y desarrollo de la planta.

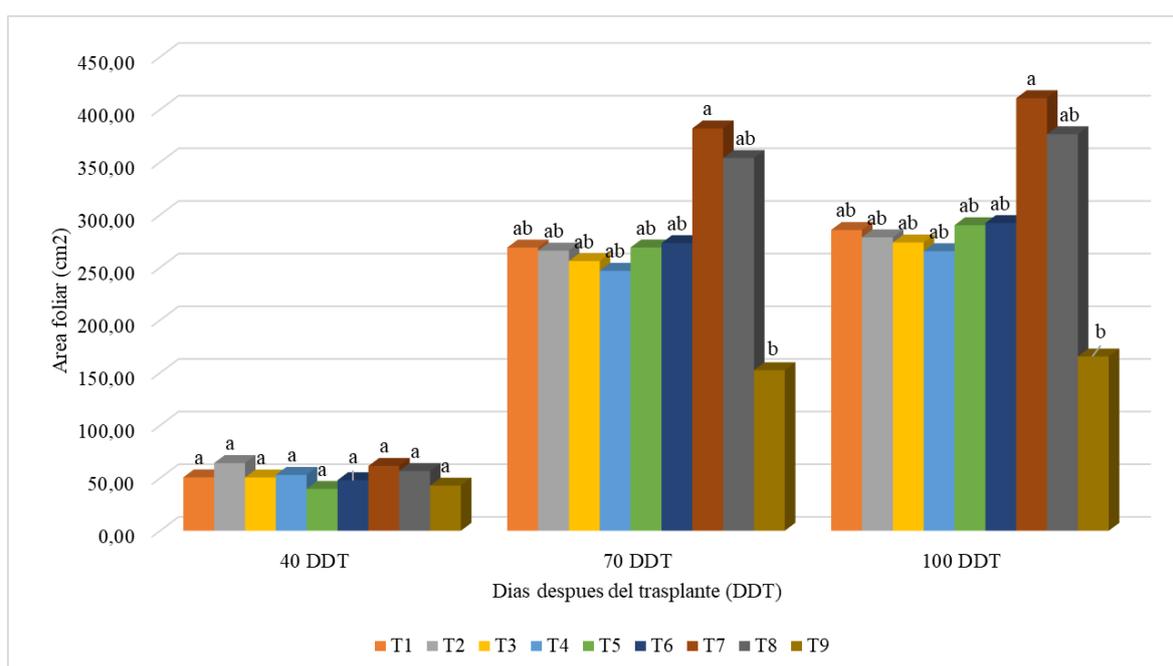


Figura 7. Área foliar del cultivo de acelga para los distintos tratamientos aplicados a los 40, 70 y 100 días después del trasplante. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Longitud de la raíz**

En la figura 8 se indica que, la longitud de la raíz fue significativamente mayor en las plantas de los tratamientos T7 (*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp.) y T8 (testigo positivo), en comparación al resto incluyendo el testigo. Por ejemplo, el T7 y T8 alcanzaron longitudes radicales promedio de 29,28 cm y 31,01 cm respectivamente, mientras que en el testigo fue de 18,31 cm.

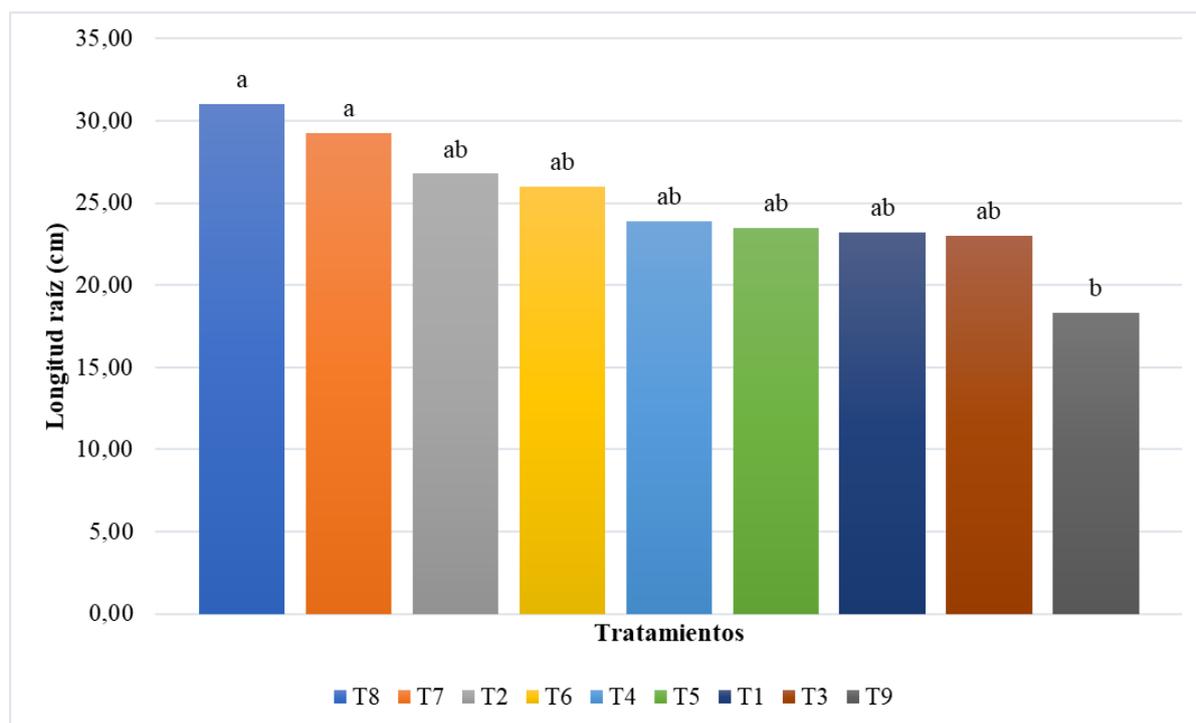


Figura 8. Longitud de la raíz de las plantas acelga registrados al final del ensayo, con los distintos tratamientos aplicados. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Número de hojas**

Los tratamientos T7 (*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp.) y T8 (testigo +) presentaron un mayor número de hojas en comparación testigo sin inocular (Figura 9). En la última evaluación T7 y T8 presentaron 11 y 10 hojas, mientras que, el testigo sin inocular alcanzó sólo 7 hojas.

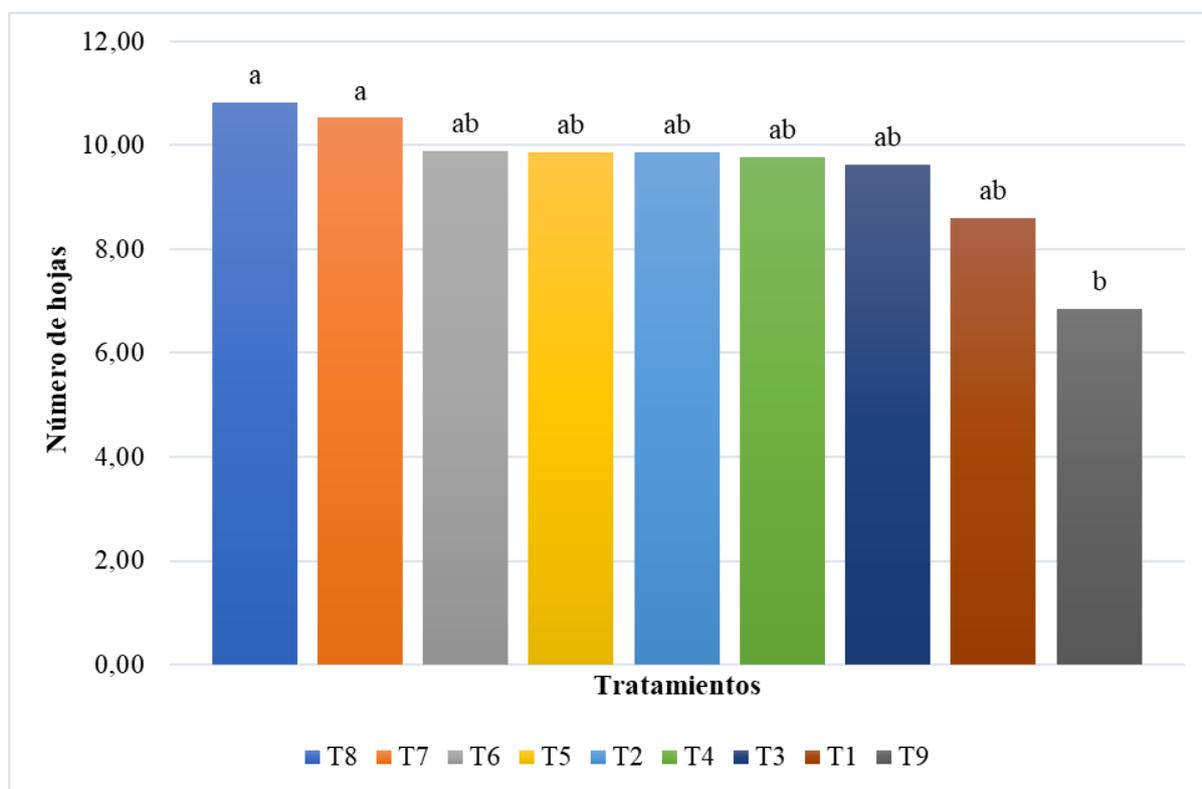


Figura 9. Número de hojas de las plantas acelga registradas al final del ensayo, con los distintos tratamientos aplicados. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Peso de materia fresca**

El peso fresco de las plantas, fue significativamente mayor en el testigo positivo (T8) y similar en los tratamientos con *Chlorella* sp., y MPCV aplicados individualmente y en combinación, en relación al testigo negativo (T9) (Figura 10). El tratamiento T8 presento un peso promedio de 380,26 g frente a solo 175,53 g del T9.

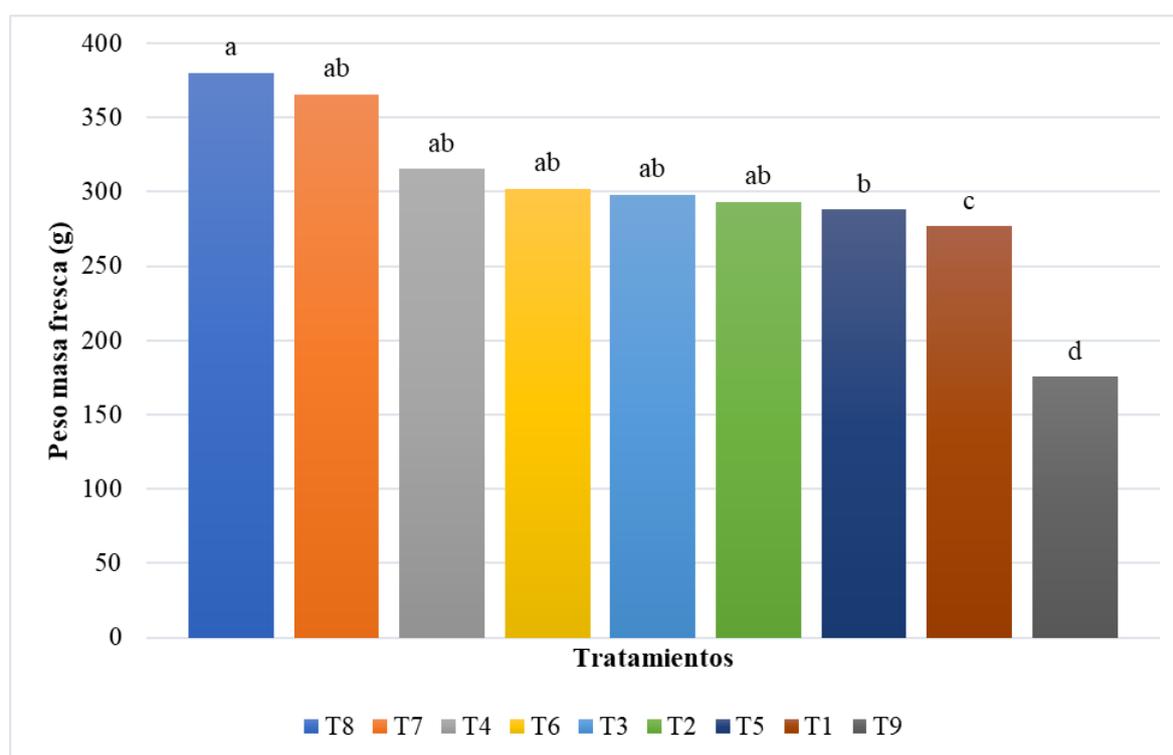


Figura 10. Peso fresco de las plantas acelga registrados al final del ensayo, con los distintos tratamientos aplicados. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

- **Peso de materia seca**

El análisis estadístico del contenido de materia seca mostró que los tratamientos T8 (testigo positivo), T7 (*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp.), T5 (*Chlorella* sp.+ *Azotobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas* sp.) y T3 (*Azospirillum* sp.) presentaron pesos secos significativamente superiores al testigo absoluto (T9) (Figura 11). El tratamiento T8 alcanzó un peso seco promedio de 40,97 g frente a 15,93 g del testigo negativo (T9).

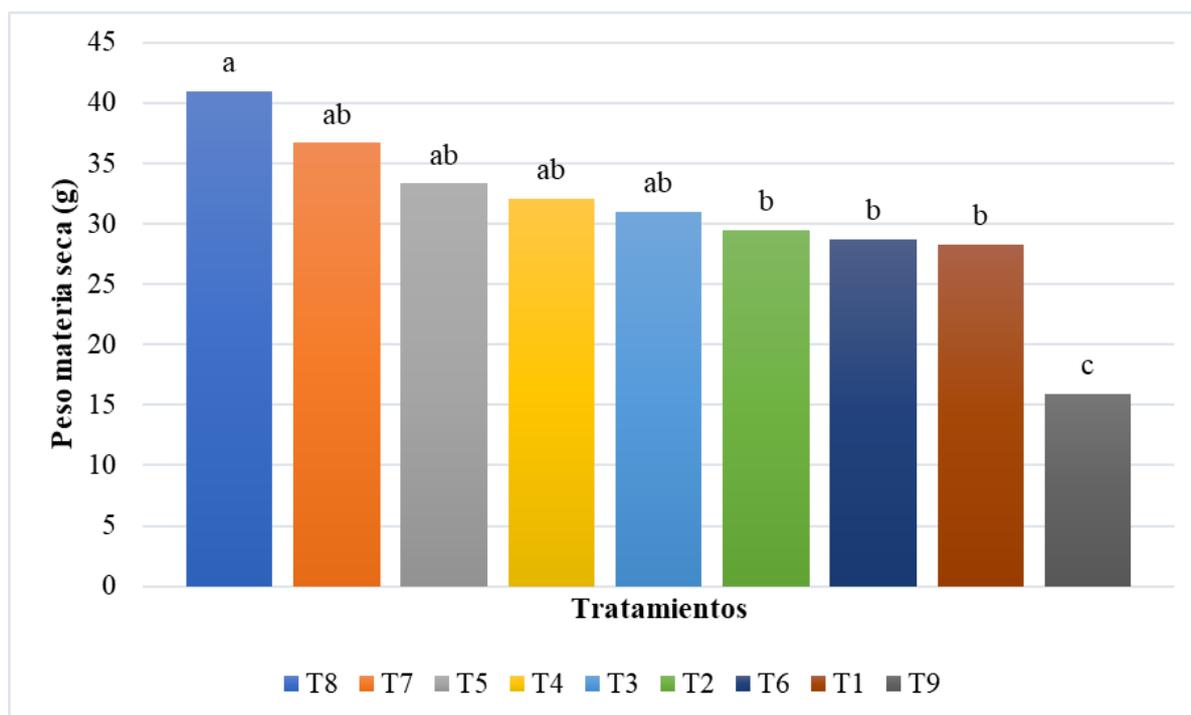


Figura 11. Peso seco de las plantas acelga registrados al final del ensayo, con los distintos tratamientos aplicados. Las letras superiores representan las diferencias significativas entre cada tratamiento con un $p > 0,05$.

Leyenda: T1=*Chlorella* sp., T2=*Azotobacter* sp., T3=*Azospirillum* sp., T4=*Pseudomonas* sp., T5=*Chlorella* sp. + *Azotobacter* sp., T6=*Chlorella* sp. + *Azospirillum* sp. y T7=*Chlorella* sp. + *Pseudomonas* sp., T8=Testigo positivo, T9= Testigo negativo.

7. Discusión

7.1. Discusiones para el primer objetivo

- **Porcentaje de germinación**

Los tratamientos con *Chlorella* combinada con MPCV y bacterias solas presentaron los valores más altos, superando al testigo negativo en 45 %. Estos resultados concuerdan con lo reportados por Aldana & Rojas, (2019), quienes al aplicar *Chlorella sp.* en semillas de zanahoria encontraron aumentos de 41 % en el porcentaje de germinación en comparación al testigo sin inocular, en el suelo franco arcilloso con limitaciones de nutrientes. En otro estudio con remolacha, Puglisi et al., (2020) reportaron aumentos menores de solo 15 %, en el porcentaje de germinación con la aplicación de extractos de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda*. Las diferencias en la magnitud del efecto positivo podrían deberse al método de aplicación, dado que en este estudio de acelga fue directamente en semilla, mientras que en remolacha fue imbibición previa. También los resultados concuerdan con lo reportado por Gitau et al., (2022) con rizobacterias incrementaba significativamente el porcentaje y velocidad de germinación de semillas de tomate, atribuyéndolo a la provisión de nutrientes, reguladores de crecimiento y la capacidad bioestimulante de las microalgas y rizobacterias.

- **Aparición de hojas cotiledonales**

No se evidencian diferencias significativas entre tratamientos inoculados y testigos, resultados que coinciden con los reportados por Tejera et al., (2004) en lechuga, donde la aplicación de un bioproducto microalgal no afectó la emergencia en comparación al control. Sin embargo, otros estudios encontraron disminuciones en el tiempo de emergencia por efecto de bioestimulantes, como Norrie & Keathley, (2006) quienes registraron 2 días menos en la aparición de plántulas de tomate con la aplicación de *Ascophyllum nodosum*. Las variaciones en el efecto sobre la emergencia parecen depender del tipo de cultivo, los microorganismos utilizados y las dosis de aplicación. Es probable que la acelga se requieran dosis mayores a *Chlorella sp.* y MPCV para acelerar la emergencia y aparición de hojas cotiledonales. La ausencia de un efecto positivo en esta variable podría deberse a que la aparición de las hojas cotiledonales depende principalmente de factores internos de la semilla como sus reservas nutritivas, mientras que los microorganismos inoculados podrían tener influencia más importante en etapas posteriores del crecimiento (D. Escobar & Cardoso, 2015).

7.2. Discusiones para el segundo objetivo

- **Prendimiento/sobrevivencia de las plántulas.**

Los tratamientos con *Chlorella* sp. y MPCV presentaron mayor porcentaje en comparación al testigo sin inocular. Resultados similares fueron reportados por Ronga et al., (2019) quienes encontraron aumentos del 15 % en el prendimiento de plántulas de tomate con la aplicación de un bioproducto microalgal. Asimismo, Povero et al., (2016) registraron incrementos del 44 % en el establecimiento de plantines de lechuga con un biofertilizante líquido que contiene microalgas. En otro estudio con zanahoria, sin embargo, no se hallaron diferencias significativas en el prendimiento entre plantas inoculadas con *Azospirillum* sp. y un testigo absoluto (Rivera et al., 2014). Las variaciones entre estudios probablemente se deben al tipo de cultivo, los microorganismos utilizados y las condiciones edafoclimáticas específicas. Los resultados sugieren que en la acelga la aplicación de *Chlorella* sp. combinada con MPCV tienen un efecto positivo en la supervivencia de las plántulas durante la fase crítica posterior al trasplante.

- **Altura de la planta**

Respecto a la altura, todos los tratamientos superaron al testigo negativo durante el ciclo de cultivo, coincidiendo con Tejera et al., (2004), quienes encontraron aumentos del 66 % en la altura de lechuga con la inoculación de *Azospirillum* sp. De manera similar, De-Bashan et al., (2007) reportaron incrementos de altura en plántulas de tomate del 29 % con la bacteria *Pseudomonas putida*. En contraste, Norrie & Keathley, (2006) no hallaron diferencias significativas en la altura de plantas de vid tratadas con un bioestimulante de algas, lo que denota respuestas variables según el cultivo. Es decir, la aplicación de *Chlorella* sp. y MPCV, solos o combinados mejoran la altura de las plantas de acelga en comparación al testigo, comprobándose su efecto bioestimulante.

- **Área foliar**

En relación con el área foliar, el tratamiento con *Chlorella* sp. más *Pseudomonas* sp. presentaron los valores más altos en comparación a lo demás tratamientos y testigo negativo. Resultados similares fueron reportados por Ramos Vásquez, (2016), quienes encontraron un aumento de 156 % en el área foliar de plantas de papa con la inoculación de *Pseudomonas* sp. en comparación con el testigo. Asimismo, Cassán et al., (2009) registraron incrementos del 43 % en el área foliar de plantas de maíz inoculadas con *Azospirillum* sp. en condiciones de sequía.

En otro estudio con trigo, la aplicación de *Azospirillum* sp. no aumentó significativamente el área foliar en comparación al testigo (Allahdadi, 2007). Las variaciones entre estudios probablemente se deben a factores como el genotipo vegetal, las cepas bacterianas y las condiciones ambientales específicas. Los resultados sugieren que en la combinación de *Chlorella* sp. más *Pseudomonas* sp. tienen un efecto positivo en el área foliar, variable asociada con la tasa fotosintética y el rendimiento.

- **Longitud de raíz**

Respecto a la longitud de raíz, los tratamientos *Chlorella* sp. más *Pseudomonas* sp. y el testigo positivo mostraron mayores valores, superando al testigo negativo. Resultados similares fueron reportados por El-Yazeid et al., (2007), quienes encontraron un aumento del 48 % en la longitud de raíces de plantas de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp. en comparación con el testigo. De manera comparable, Cassán et al., (2009) registraron incrementos del 76 % en la longitud radical de maíz inoculadas con *Azospirillum* sp. en condiciones de estrés hídrico. Por el contrario, Bacilio et al., (2003) no hallaron diferencias significativas en la longitud de raíces de plántulas de tomate inoculadas con *Pseudomonas* sp. frente al control sin inocular. Un resultado relevante fue *Chlorella* sp. más *Pseudomonas* sp. que superaron al fertilizante químico (testigo positivo) en área foliar, coincidiendo con Lira et al., (2020) quienes obtuvieron un mayor crecimiento en lechuga con la inoculación dual en comparación al fertilizante mineral. Esto se explica por los múltiples mecanismos de acción biológica.

- **Número de hojas**

En relación al número de hojas, la inoculación combinada de *Chlorella* sp. y *Pseudomonas* sp. presentaron un efecto positivo similar al fertilizante químico, e incrementó esta variable en un 58 % respecto al testigo sin inocular. Resultados similares fueron reportados por Lebsky et al., (2001) quienes obtuvieron hasta el 65 % más hojas en lechuga con la aplicación de una mezcla de *Azospirillum* sp. y *Chlorella* sp. en comparación con el control. El mayor número de hojas probablemente se debió a la síntesis de reguladores de crecimiento como auxinas por la bacteria y compuestos bioactivos como citoquininas por la microalga (J. E. García et al., 2017). Por otro lado, la inoculación individual de los microorganismos (T1-T4) no mostró efectos significativos en la variable, lo que sugiere un efecto sinérgico de la inoculación combinada de *Chlorella* sp. más *Pseudomonas* sp. esto concuerda con Demir et al., (2023) quienes obtuvieron mayor crecimiento en lechuga con la inoculación dual en

comparación al fertilizante mineral. Los mecanismos de acción conjunta parecen potenciar el efecto promotor del crecimiento.

- **Peso materia fresca**

En relación al peso fresco, los datos obtenidos en este estudio indican que la aplicación de *Chlorella* sp. y MPCV como *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., y *Pseudomonas* sp., tanto de manera individual como en combinación, mejoraron significativamente el peso fresco de las plantas en comparación con el testigo negativo. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Vargas et al., (2001) quienes al aplicar biofertilizantes a base de *Azotobacter* en lechuga, encontraron incrementos de hasta 30 % en el peso fresco respecto al testigo. De manera similar La Bella et al., (2021) reportaron aumentos del 18 % en peso fresco al usar o biofertilizante en lechuga. En contraste con estos resultados Omer et al., (2022), no encontraron efectos significativos en el peso fresco de lino (*Linum usitatissimum*) al aplicar *Pseudomonas* y *Azospirillum* en comparación al testigo absoluto. Esto probablemente se deba a las diferencias en las dosis y concentraciones de microorganismos utilizadas, así como a las condiciones edafoclimáticas particulares para cada estudio. Además, los microorganismos evaluados tanto de forma individual como en combinación, mostraron potencial para mejorar el crecimiento de las plantas de acelga en términos de peso fresco, constituyendo alternativas prometedoras para reemplazar parcial o totalmente los fertilizantes químicos.

- **Peso materia seca**

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con investigaciones previas que demuestran los efectos positivos de las microalgas y MPCV sobre el contenido de materia seca en cultivos hortícolas. Bashan et al., (2004) encontraron aumentos de hasta 40 % en el peso seco de lechuga con la inoculación de *Azospirillum brasilense*. Así mismo, la aplicación de *Chlorella vulgaris* mejoró en un 20 % el peso seco de las plantas de acelga en un estudio de (Bumandalai, 2019). El incremento de materia seca se atribuye a una mayor tasa fotosintética inducida por la provisión de bioestimulantes y la optimización nutricional generada por los MPCV y microalgas (Monroy-Pedroza et al., 2021). En contraste Bashan et al., (2014) no encontraron cambios significativos en el peso seco de lechuga con la aplicación de *Pseudomonas* en comparación al testigo químico. Esto probablemente se deba a una baja población bacteriana en el inoculante que limitó su efectividad estimulante. Es decir, los microorganismos estudiados muestran un alto potencial para mejorar la productividad de cultivos mediante el aumento en la acumulación de materia seca.

8. Conclusiones

- La inoculación con *Chlorella* y microorganismos promotores del crecimiento vegetal aplicadas individualmente o en combinación tuvieron un efecto positivo sobre la germinación de semillas donde se observó un efecto sinérgico al combinar *Chlorella sp.*, con *Pseudomonas sp.*, lo que demostró la factibilidad y ventajas de aplicar estos microorganismos en consorcio.
- La microalga y los microorganismos promotores del crecimiento vegetal mejoraron sustancialmente la mayoría de variables como altura, área foliar, longitud radical, producción de hojas, contenido de materia fresca y seca, respecto al testigo sin inocular. Estos resultados evidencian el potencial bioestimulante de *Chlorella* y MPCV para mejorar el desempeño agronómico y productivo del cultivo.

9. Recomendaciones

- Probar diferentes concentraciones de *Chlorella* y microorganismos promotores del crecimiento vegetal, para la obtención de nuevos resultados en lo que respecta a las variables que no cuentan con diferencias significativas claras.
- Realizar más de dos aplicaciones de microalga en combinación con MPCV, para obtener algún efecto significativo en la variable de altura de la planta.

10. Bibliografía

- Aldana, X. B., & Rojas, G. S. (2019a). Evaluación del potencial de *Chlorella* spp. En la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME- UAN.
<https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/handle/20.500.12746/4054>
- Aldana, X. B., & Rojas, G. S. (2019b). Evaluación del potencial de *Chlorella* spp. En la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME- UAN [UNIVERSIDAD DE MANIZALES].
https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/4054/Becerra_Aldana_Xiomara_2019.pdf?sequence=1
- Allahdadi, I. (2007). Isolation and Selection of Indigenous *Azospirillum* spp. And the IAA of Superior Strains Effects on Wheat Roots.
<https://www.semanticscholar.org/paper/Isolation-and-Selection-of-Indigenous-Azospirillum-Allahdadi/a633008710b909b7892a819835268bc1cc786cd4>
- Bacilio, M., Vazquez, P., & Bashan, Y. (2003). Alleviation of noxious effects of cattle ranch composts on wheat seed germination by inoculation with *Azospirillum* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 38(4), 261-266. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0650-1>
- Bashan, Y., de-Bashan, L., Prabhu, S., & Hernandez, J. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant and Soil*, 378, 1-33. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>
- Bashan, Y., Holguin, G., & de-Bashan, L. E. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology*, 50(8), 521-577. <https://doi.org/10.1139/w04-035>
- Bozokalfa, K., Eşiyok, D., & Aşçıoğlu, T. (2016). Diversity pattern among agromorphological traits of the Swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *Vulgaris*) genetic

- resources of Turkey. *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY*, 40, 684-695. <https://doi.org/10.3906/tar-1512-80>
- Bumandalai, O. (2019). Effect of *Chlorella vulgaris* as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. *International Journal of Aquatic Biology*, 7, 95-99. <https://doi.org/10.22034/ijab.v7i2.582>
- Campo, A., Acosta, R., Velasco, S., & Prado, F. (2014). EVALUATION OF MICROORGANISMS OF MOUNTAIN (MM) IN THE PRODUCTION OF CHARD ON THE PLATEAU OF POPAYÁN. 12, 79-87.
- Camposano, I. C. M. (2020). Análisis de cultivos hortícolas como alternativa en la producción agrícola en la región costa del Ecuador [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8429>
- Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., & Luna, V. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, 45(1), 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.08.005>
- Chavelis, M. (2014). ACELGA. <https://www.academia.edu/11249443/ACELGA>
- Darienko, T., Rad-Menéndez, C., Campbell, C., & Pröschold, T. (2019). Are there any true marine *Chlorella* species? Molecular phylogenetic assessment and ecology of marine *Chlorella*-like organisms, including a description of *Droopiella* gen. nov. *Systematics and Biodiversity*, 17(8), 811-829. <https://doi.org/10.1080/14772000.2019.1690597>
- De-Bashan, L. E., Holguin, G., Glick, B. R., & Bashan, Y. (2007). Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. *Microbiología agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo*. México: Editorial Trillas, 170-224.

- Demir, H., Sönmez, İ., Uçan, U., & Akgün, I. (2023). Biofertilizers Improve the Plant Growth, Yield, and Mineral Concentration of Lettuce and Broccoli. *Agronomy*, 13, 2031. <https://doi.org/10.3390/agronomy13082031>
- El-Yazeid, A. A., Abou-Aly, H., Mady, M., & Moussa, S. A. (2007). Enhancing Growth , Productivity and Quality of Squash Plants Using Phosphate Dissolving Microorganisms (Bio phosphor ®) Combined with Boron Foliar Spray. [https://www.semanticscholar.org/paper/Enhancing-Growth-%2C-Productivity-and-Quality-of-\(-%C2%AE-El-Yazeid-Abou-Aly/6f37f9e67b432c4ae27bc24f5ee6f8a26446f0d2](https://www.semanticscholar.org/paper/Enhancing-Growth-%2C-Productivity-and-Quality-of-(-%C2%AE-El-Yazeid-Abou-Aly/6f37f9e67b432c4ae27bc24f5ee6f8a26446f0d2)
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., & Mendoza, G. (2011). Characterization of native strains of *Azotobacter* spp. And its effect on growth of *Lycopersicon esculentum* Mill. “Tomato” in Lambayeque. *Scientia agropecuaria*, 39-49. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2011.01.05>
- Escobar, D., & Cardoso, V. (2015). Germinación y latencia de semillas de *Miconia chartacea* (Melastomataceae), en respuesta a luz, temperatura y hormonas vegetales. *Rev. Biol. Trop.*, 63.
- FAO. (2002). Los fertilizantes y su uso. <https://www.fao.org/3/x4781s/x4781s.pdf>
- Fundacion Española de Nutrición. (2023). Verduras y Hortalizas. Alimentos y bebidas. <https://www.fen.org.es/storage/app/media/flipbook/mercado-alimentos-fen/006/index.html#p=2>
- García, J. E., Maroniche, G., Creus, C., Suárez-Rodríguez, R., Ramirez-Trujillo, J. A., & Groppa, M. D. (2017). In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. *Microbiological Research*, 202, 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.007>

- García, M. (2013). EL CULTIVO DE LA ACELGA The chard growing.
https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2013/446/42109/1/Documento.pdf
- Gitau, M. M., Farkas, A., Ördög, V., & Maróti, G. (2022). Evaluation of the biostimulant effects of two Chlorophyta microalgae on tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Cleaner Production*, 364, 132689. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132689>
- Gómez, L., Tormos-Cedeño, L., Ortega-Díaz, Y., Gómez-Luna, L., Tormos-Cedeño, L., & Ortega-Díaz, Y. (2022). Cultivo y aplicaciones de *Chlorella vulgaris*: Principales tendencias y potencialidades en la agricultura. *Tecnología Química*, 42(1), 70-93.
- Intagri, S. C. (2023). Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal | Intagri S.C.
<https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/bacterias-promotoras-del-crecimiento-vegetal>
- ITIS. (2023). SITI - Informe: *Beta vulgaris* ssp. Ciclo. Integrated Taxonomic Information System - Report.
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=524868#null
- La Bella, E., Baglieri, A., Rovetto, E. I., Stevanato, P., & Puglisi, I. (2021a). Foliar Spray Application of *Chlorella vulgaris* Extract: Effect on the Growth of Lettuce Seedlings. *Agronomy*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020308>
- La Bella, E., Baglieri, A., Rovetto, E. I., Stevanato, P., & Puglisi, I. (2021b). Foliar Spray Application of *Chlorella vulgaris* Extract: Effect on the Growth of Lettuce Seedlings. *Agronomy*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020308>
- Lebsky, V. K., Gonzalez-Bashan, L. E., & Bashan, Y. (2001). Ultrastructure of interaction in alginate beads between the microalga *Chlorella vulgaris* with its natural associative bacterium *Phyllobacterium myrsinacearum* and with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(1), 1-8.

- Lira, D. N. de S., Arauco, A. M. de S., Boechat, C. L., Moitinho, M. R., Lacerda, J. J. de J., & Martins, E. da C. (2020). Associative diazotrophic bacteria inoculated in sugarcane cultivars: Implications on morphophysiological attributes and plant nutrition. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 44, e0190155.
<https://doi.org/10.36783/18069657rbcS20190155>
- Lira, S. (2017). Uso de Biofertilizantes en la Agricultura Ecológica | Intagri S.C. Uso de Biofertilizantes en la Agricultura Ecológica. *Serie Agricultura Orgánica* ., 14.
<https://www.intagri.com/articulos/agricultura-organica/uso-de-biofertilizantes-en-la-agricultura-ecologica>
- Mangmang, J. S., Deaker, R., & Rogers, G. (2015). Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasilense* inoculated by soaking and drenching. *Horticultural Science*, 42(1), 37-46. <https://doi.org/10.17221/159/2014-HORTSCI>
- Monroy-Pedroza, D., Martínez-Hernández, J. de J., Gavi-Reyes, F., Torres-Aquino, M., Hernández-Ríos, I., Monroy-Pedroza, D., Martínez-Hernández, J. de J., Gavi-Reyes, F., Torres-Aquino, M., & Hernández-Ríos, I. (2021). Crecimiento, acumulación y distribución de materia seca en dos variedades de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* y *A. cruentus*) bajo fertirrigación. *Biotecnia*, 23(3), 14-21.
<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i3.1399>
- Norrie, J., & Keathley, J. P. (2006). Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to «Thompson seedless» grape production. *Acta Horticulturae*, 727, 243-248. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.727.27>
- Omer, A. M., Osman, M. S., & Badawy, A. A. (2022). Inoculation with *Azospirillum brasilense* and/or *Pseudomonas geniculata* reinforces flax (*Linum usitatissimum*) growth by improving physiological activities under saline soil conditions. *Botanical Studies*, 63(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s40529-022-00345-w>

- Ortiz, M. L., Sandoval-Parra, K. X., & Solarte-Murillo, L. V. (2019). Chlorella, ¿un potencial biofertilizante? *Orinoquia*, 23(2). <https://doi.org/10.22579/20112629.582>
- Ortiz-Moreno, M. L., Sandoval-Parra, K. X., & Solarte-Murillo, L. V. (2019). Chlorella, ¿un potencial biofertilizante? *ORINOQUIA*, 23(2), 71-78.
<https://doi.org/10.22579/20112629.582>
- Otieno, N., Lally, R., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K., & Dowling, D. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*, 6.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00745>
- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., & Warrior, P. (2016). A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 435. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00435>
- Puglisi, I., La Bella, E., Rovetto, E. I., Lo Piero, A. R., & Baglieri, A. (2020). Biostimulant Effect and Biochemical Response in Lettuce Seedlings Treated with A *Scenedesmus quadricauda* Extract. *Plants*, 9(1), 123. <https://doi.org/10.3390/plants9010123>
- Ramos Vásquez, E. R. (2016). Diversidad microbiana en la rizósfera de papas nativas amargas cultivadas en el altiplano puneño y su capacidad promotora de crecimiento vegetal. Universidad Nacional Agraria La Molina.
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/2789>
- Rivera, D., Revale, S., Molina, R., Gualpa, J., Puente, M., Maroniche, G., Paris, G., Baker, D., Clavijo, B., Mclay, K., Spaepen, S., Peticari, A., Vazquez, M., Wisniewski-Dyé, F., Watkins, C., Martinez-Abarca, F., Vanderleyden, J., & Cassan, F. (2014). Complete Genome Sequence of the Model Rhizosphere Strain *Azospirillum brasilense* Az39, Successfully Applied in Agriculture. *Genome announcements*, 2.
<https://doi.org/10.1128/genomeA.00683-14>

- Rodrigues, M. Â., Ladeira, L. C., & Arrobas, M. (2018). Azotobacter-enriched organic manures to increase nitrogen fixation and crop productivity. *European Journal of Agronomy*, 93, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.01.002>
- Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy*, 9(4), 192. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040192>
- Tejera, N. A., Campos, R., Sanjuan, J., & Lluch, C. (2004). Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in *Phaseolus vulgaris* nodules formed by *Rhizobium tropici* isogenic strains with varying tolerance to salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 161(3), 329-338. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01050>
- Trifunovic, S., Topalovic, A., Knežević, M., & VAJS, V. (2015). Free radicals and antioxidants: Antioxidative and other properties of Swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*). *Agric. For.*, 61. <https://doi.org/10.17707/AgricultForest.61.2.06>
- Vargas, P. D., Ferrera-Cerrato, R., & Almaraz-Suárez, J. J. (2001). INOCULACION DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO EN LECHUGA.
- Yeshitila, M. (2016). Non-destructive Prediction Models for Estimation of Leaf Area for Most Commonly Grown Vegetable Crops in Ethiopia. *Science Journal of Applied Mathematics and Statistics*, 4, 202. <https://doi.org/10.11648/j.sjams.20160405.13>

11. Anexos



Anexo 1. Delimitación de parcelas en la quinta experimental la Argelia.



Anexo 2. Control de plagas (Diabrotica), con el uso de insecticida químico.



Anexo 3. Variedad FordHook Giant, cultivada.



Anexo 4. Inicio de la germinación de las semillas de acelga a los 3 días después de la siembra.



Anexo 5. Inoculación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal y microalga en semillero.



Anexo 6. Germinación del 100 % de las semillas de acelga.



Anexo 7. Aparición de hojas cotiledonales.



Anexo 8. Medición de la variable altura.



Anexo 9. Medición de largo y ancho de la hoja, correspondiente a la variable área foliar.



Anexo 10. Conteo de número de hojas.



Anexo 11. Medición de la longitud radical.



Anexo 12. Cosecha del cultivo de acelga.



Anexo 13. Peso de materia seca.

Lic. Alexander Masache Escobar, Mgs

0987216493

alexander.masache@educacion.gob.ec

Loja - Ecuador

Loja, 6 de enero del 2024

El suscrito, Alexander Masache Escobar, Mgs, **DOCENTE EDUCACIÓN BÁSICA** (registro de la SENESCYT número: 1031-2023-2668502), **ÁREA DE INGLÉS-UNIDAD EDUCATIVA PADRE JULIÁN LORENTE**, a petición de la parte interesada y en forma legal

CERTIFICA:

Que la traducción del resumen del documento adjunto, solicitado por el señor: **Adrian Alexander Achupallas Armijos** con cédula de ciudadanía N° **1150478897**, cuyo tema de investigación se titula: *“Respuesta agronómica de la acelga (*Beta vulgaris L.*) mediante la combinación de *Chlorella* y bacterias promotoras del crecimiento bajo condiciones de campo en la Argelia”* ha sido realizado y aprobado por mi persona, Alexander Masache Escobar, Mgs. Docente de Educación Básica en la enseñanza del inglés como lengua extranjera.

El apartado del ~~Abstract~~ es una traducción textual del Resumen aprobado en español.

Particular que comunico en honor a la verdad para los fines académicos pertinentes, facultando al portador del presente documento, hacer uso legal pertinente.



Lic. Alexander Masache Escobar, Mgs.
English Professor

Anexo 14. Certificado de traducción del resumen.